

Quaggi: dell' A.

CLINICA DERMOSIFILOPATICA DELLA REGIA UNIVERSITÀ DI PARMA

DIRETTA DAL PROF. V. MIBELLI

B 9 146

A PROPOSITO DELLE RECENTI OSSERVAZIONI

SUI

PROTOZOI NELLA SIFILIDE

NOTA DEL

Dott. A. PASINI

Estratto dal *Giornale Italiano delle Malattie Veneree e della Pelle*

FASCICOLO III — 1905



MILANO

TIPOGRAFIA DEGLI OPERAI (SOCIETÀ COOP.)

Corso Vittorio Emanuele 12-16

1905

A PROPOSITO DELLE RECENTI OSSERVAZIONI
SUI PROTOZOI NELLA SIFILIDE

Nota del Dott. **A. Pasini.**

Lo studio etiologico di alcune malattie ad agente patogeno ancora sconosciuto ha ricevuto in questi ultimi mesi un novello impulso con la scoperta di alcune nuove forme di protozoi.

John Siegel (1), nel gennaio dell'anno in corso, ha presentato alla Regia Accademia Prussiana di Scienze tre monografie, nelle quali riferisce dettagliatamente il risultato di nuove ricerche sull'agente etiologico del vaiolo, della scarlattina e della sifilide.

Nel corso dell'ultimo trentennio è stata avvisata da diversi autori nelle vescico-pustole del vaiolo e nella linfa vaccinica la presenza di un corpo speciale, che per i suoi peculiari caratteri morfologici venne interpretato, ora come un parassita, ed ora come un prodotto di degenerazione cellulare.

La natura di questi corpi speciali era stata ampiamente studiata nel 1892 da Guarnieri (2), e fin d'allora egli aveva sostenuto ch'essi sono dei protozoi, e li aveva indicati col nome di *Citoryctes*, "dalla loro proprietà caratteristica di corrodere il protoplasma delle cellule „.

Attualmente John Siegel ha inoculato la linfa vaccinica nella cornea, nel sottocutaneo e nella cavità peritoneale di conigli e di giovenche, ed avendo ucciso gli animali mediante cloroformio alla distanza di tre giorni dalla inoculazione, ha esaminato, con un ingrandimento di circa 2000 diametri, sia il sangue ed il succo degli organi in preparati a fresco, sia i tessuti degli organi fissati in alcool-sublimato, e coloriti con una soluzione di azzurro di metilene al 1 ‰, oppure con una soluzione di verde di metile.

Nei preparati a fresco, Siegel ha osservato che questi corpi speciali presentano dei fenomeni vitali di movimento, hanno forma ovale con un diametro che varia da $1\frac{1}{2}$ ad 1 μ .; sono costituiti da una massa protoplasmatica dalla quale fuoresce un prolungamento che rifrange fortemente la luce, e contengono due corpi ovoidi e lucenti, situati a guisa di nucleo

(1) JOHN SIEGEL, Untersuchungen über die Aetiologie der Pocken und der Maul und Klauenseuche, die Aetiologie des Scharlachs und die Aetiologie der Syphilis. Drei Monographien mit zusammen 5 Tafeln. Aus dem Anhang zu den Abhandlungen der Königlich Preussischen Akademie der Wissenschaften vom Jahre 1905.

(2) GUARNIERI, Sulla etiologia della infezione vaccinica-vaiolosa. *Archivio per le Scienze Mediche*, 1902.

nel mezzo della massa protoplasmatica: passano attraverso il filtro di Chamberland.

Per questi speciali loro caratteri Siegel ha interpretato i corpi della linfa vaccinica come parassiti appartenenti al gruppo dei protozoi, li ha classificati come una forma intermedia fra i flagellati e gli sporozoi, ed ha mantenuto ad essi il nome già proposto da Guarnieri di *Citoryctes variolae et vaccinae*.

Subito dopo queste ricerche nel vaiolo, Siegel ne ha intrapreso altre uguali nella scarlattina. Nel sangue di bambini in diverso periodo di questa malattia, e nel sangue come nel succo degli organi di conigli inoculati con una emulsione di glicerina e squame di scarlattinosi finamente triturate, Siegel ha osservato la costante presenza di un corpo lucente, rotondeggiante, dotato di fenomeni vitali. Le forme giovani di questo corpo assomigliano ai tripanosomi, le forme adulte hanno un aspetto cistoide, il quale viene loro impartito dalla divisione di speciali formazioni nucleari, che sono in esso contenute. Siegel ha emesso la opinione che questi corpi sono specifici della scarlattina, che sono dei protozoi ed una forma intermedia fra i flagellati e gli sporozoi, e li ha designati col nome di *Citoryctes scarlatinae*.

Il risultato di questi studi nel vaiolo e nella scarlattina ha indotto Siegel ad intraprendere altre ricerche, uguali alle precedenti, anche nella sifilide, ed a ciò fu specialmente indotto dalla considerazione, che anche questa malattia può ritenersi, in certo modo, come facente parte del gruppo degli esantemi acuti.

Anche nella sifilide Siegel ha trovato dei parassiti simili a quelli già osservati nel vaiolo e nella scarlattina.

Nel sangue di sifilitici non curati, nel prodotto di raschiamento di sifilomi, di papule umide, e nel sangue come nel succo degli organi di conigli inoculati con prodotti sifilitici, Siegel ha verificato in esami a fresco la costante presenza di corpi ovali, della dimensione di $\frac{1}{2}$ ad 1 μ , muoventisi per mezzo di prolungamenti che emanano dalla massa protoplasmatica del corpo. Anche nel tessuto di prodotti sifilitici induriti in alcool, sottilmente sezionati e coloriti con ematossilina ed azzurro di metilene, Siegel ha trovato gli stessi corpi, tinti intensamente in azzurro, nelle cellule del connettivo ed in quelle delle pareti dei vasi: i corpi occupano sempre il protoplasma e la sostanza fondamentale delle cellule, giammai il nucleo. Siegel è di avviso che questi corpi sono l'elemento parassitario specifico della sifilide, e che sono dei protozoi appartenenti al gruppo dei *Citoryctes*: li ha perciò indicati col nome di *Citoryctes luis*.

Un mese appena era trascorso dalla pubblicazione delle monografie di Siegel, allorchè Schaudinn e Hoffmann (1) comunicarono alla *Kaiser-*

(1) SCHAUDINN und HOFFMANN, Vorläufiger Bericht über das Vorkommen von Spirochaeten in syphilitischen Krankheitsprodukten und bei Papillomen. *Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundh.*, Bd. XXII, Heft 2, 1905.

lichen Gesundheitsamte di Berlino, di avere osservato nel prodotto di sifilomi iniziali e di papule umide, e nel liquido estratto con l'aspirazione da adenopatie inguinali satelliti a sifilomi, la presenza di organismi appartenenti al gruppo degli spirocheti.

Sopra questi speciali organismi Schaudinn (1) ha fatto una comunicazione di altissimo valore scientifico fin dallo scorso 1904 alla stessa *Kaiserlichen Gesundheitsamte*, ed in essa ha dimostrato, che gli spirocheti sono microrganismi bene differenziati dagli spirilli, che non appartengono come questi ultimi alle batteriacee, ma che sono invece dei protozoari, e precisamente dei flagellati al pari dei tripanosomi, e che infine tripanosomi e spirocheti rappresentano una forma di moltiplicazione asessuata per divisione binaria longitudinale.

Gli spirocheti si distinguono dagli spirilli sia pei caratteri morfologici che per le proprietà tintoriali. Gli spirilli hanno la forma di un filamento sottile e rigido, per lo più diritto, con flagelli polari e si tingono facilmente con i comuni colori di anilina. Gli spirocheti hanno la forma di un filamento appuntito agli estremi, e sono costituiti da una sottilissima membrana ondulata, che si flette facilmente e può assumere perciò forme svariate: hanno affinità tintoriale per la sola colorazione di azzurro-eosina del Giemsa.

Fra gli spirocheti che si trovano nei prodotti sifilitici Schaudinn ha distinto due forme: *Spirochaete pallida* e *Spirochaete refringens*. Solamente la prima è stata considerata da Schaudinn e Hoffmann in nesso etiologico con la sifilide.

Lo *Spirochaete pallida* appare come un sottile filamento foggato a spirale; le sue dimensioni variano dai 4 ai 14 μ . in lunghezza, e dai 0,3 ai 0,5 μ . in larghezza. Allo stato vivente esso è mobile, e possiede sia dei movimenti di rotazione lungo l'asse maggiore, che delle semplici ondulazioni ameboidi di tutta la membrana del corpo. Nei preparati a fresco lo *Spirochaete pallida* si riconosce: dalle sue piccole dimensioni, dalla sottigliezza, dalla debole rifrangenza alla luce, dalla mobilità, e soprattutto dalla forma caratteristica a vite di cavaturacciolo. Nei preparati fissati e coloriti lo *Spirochaete pallida* conserva la stessa configurazione che presenta in quelli a fresco; la sua affinità per le sostanze tintoriali è quasi nulla, cosicchè si tinge debolmente nelle preparazioni per strisciamento fatte di fresco, e resta del tutto scolorito nelle sezioni istologiche dei tessuti.

Nei preparati per strisciamento la dimostrazione si ottiene fissando per 5-10 minuti primi il vetrino in alcool assoluto, ed immergendolo poi per 16-24 ore in una soluzione, che si prepara volta per volta aggiungendo ad 1 cmc. di acqua distillata una goccia di colorante azzurro-

(1) SCHAUDINN, Generations- und Wirtwechsel bei Trypanosoma und Spirochaete. In *Arbeiten a. d. Kaiserl.-Gesundheitsamte*, 1904. Bd. XX, Heft 3, pag. 387-439.

eosina di Giemsa (1), colorante che Grüber di Lipsia mette in commercio già preparato. I vetrini dal colore si passano in acqua distillata, indi si asciugano con carta bibula e si montano in olio di cedro. Per vedere lo *Spirochaete pallida* è necessario un ingrandimento di circa 1500 diametri.

Lo *Spirochaete refringens* si distingue dal pallido perchè ha dimensioni maggiori, presenta delle curve larghe, ampie, irregolarmente ondulate, e si tinge piuttosto intensamente, sia con il colorante di Giemsa sia con la comune colorazione di Ziehl e di Ehrlich.

Ma il fatto di maggiore importanza, e che più ora ci interessa, è che lo *Spirochaete pallida* si è trovato finora solamente nei prodotti sifilitici, ed il *refringens* esiste, oltrechè commisto al *pallida* nei prodotti sifilitici, anche in altre affezioni affatto indipendenti dalla lue, come i condilomi acuminati.

A stabilire il valore etiologico dello *Spirochaete pallida* nella sifilide si sono succedute nello spazio di pochi mesi parecchie pubblicazioni.

Schaudinn e Hoffmann (2), in tre memorie pubblicate nel marzo, nell'aprile e nel maggio di questo anno, riferiscono di avere costantemente trovato lo *Spirochaete pallida* in 7 sifilomi iniziali, in 9 esantemi papulosi del periodo secondario, ed in ghiandole inguinali satelliti a sifilomi, e riferiscono anche di averlo inutilmente ricercato nel prodotto di secrezione di ulcere veneree, di blenorragia ed in condilomi acuminati.

Metchnikoff (3), appena avuto notizia delle osservazioni di Schaudinn ed Hoffmann, ha istituito delle ricerche di controllo nelle scimmie, e sopra sei di questi animali sperimentalmente inoculati, ha trovato lo *Spirochaete pallida* in due antropoidi ed in altre due scimmie inferiori.

Levaditi (4) in due successive memorie ha riferito di avere trovato lo *Spirochaete pallida* nelle bolle di pemfigo sifilitico, ed in papule cutanee

(1) Si veda la dettagliata descrizione del complicato procedimento per ottenere il colorante del Giemsa nel: *Centralblatt. f. Bakt. Parasitenk. und Infektionskrankh.*, 17 Oktober 1904, pag. 308. Eine Vereinfachung und Vervollkommung meiner Methylenazur- Methylenblau- Eosin- Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung.

(2) SCHAUDINN und HOFFMANN, Ueber Spirochaetenbefunde in Lymphdreisensaft Syphilitischer. *Deutschen Med. Woch.*, 1905, N. 18.

— SCHAUDINN und HOFFMANN, Ueber Spirochaete pallida bei Syphilis und die Unterschiede dieser Form gegenüber anderen Arten dieser Gattung. *Berliner Klin. Woch.*, 1905, N. 22.

(3) METCHNIKOFF, Sur la syphilis expérimentale. Société des Hôpitaux de Paris, 25 Mai 1905.

(4) LEVADITI, Syphilis congénitale et Spirochaete pallida Schaudinn. Société de Biologie, 20 mai 1905, Paris.

— Syphilis congénitale et Spirochaete pallida Schaudinn. *La Presse Médicale*, 31 mai 1905.

all'inizio del loro sviluppo in un bambino eredo-sifilitico, e di avere inoltre osservato chiarissimi esemplari della stessa forma microbica nel polmone, nel fegato e nella milza di altri due bambini eredosifilitici morti pochi giorni dopo la nascita.

Osservazioni uguali a queste di Levaditi facevano quasi contemporaneamente Buschke e Fischer (1) in un bambino eredosifilitico morto alla età di dieci settimane.

Ma ai reperti uguali di questi Autori non corrisposero uguali conclusioni. Levaditi, da tre sole osservazioni, si è creduto autorizzato a concludere che lo *Spirochaete pallida* è l'agente patogeno della sifilide ereditaria, e che questa può essere definita come una " Spirillosi dei neonati „. Questa conclusione però a me sembra criticabile: e perchè troppo arrischiata per esser basata soltanto sui fatti enunciati, dato il riserbo che mantengono concordemente tutti gli altri autori sul valore da attribuirsi allo *Spirochaete pallida*: e perchè questa forma parassitaria non è uno spirillo, e quindi una batteriacea, ma un protozoo. Buschke e Fischer, con lodevole prudenza, si sono astenuti dal trarre da un solo caso alcuna conclusione sul valore etiologico della presenza dello *Spirochaete pallida* nella milza e nel fegato degli eredosifilitici, e fanno osservare che questo reperto può corrispondere: o ad un semplice fatto cadaverico per migrazione *post mortem* dall'intestino, od alla penetrazione nell'organismo di un microbio accidentale che determina una sepsi, oppure alla presenza di un semplice saprofita che si introduce nell'organismo dalle superfici cutanee erose, tanto frequenti nella sifilide. Per valutare queste possibilità, che possono costituire altrettante cause di errore ad una retta interpretazione sullo *Spirochaete pallida*, sono pertanto necessarie numerose ricerche di controllo in bambini non sifilitici.

Altre due brevissime note in conferma della presenza dello *Spirochaete pallida* nelle bolle del pemfigo sifilitico sono state pubblicate da Salmon (2) e da Hoffmann (3).

In altri due recentissimi lavori, Wechselmann e Loewenthal (4) riferiscono di aver osservato, mediante l'apparecchio ultramicroscopico, che lo *Spirochaete pallida* può trovarsi dentro alle cellule in mezzo al protoplasma, e che questi organismi sono provvisti di un nucleo; Queyrat e Joltrain (5) hanno comunicato alla Società degli Ospedali di Parigi di avere

(1) BUSCHKE und FISCHER, Ueber das Vorkommen von Spirochaeten in inneren Organen eines syphilitischen Kindes. *Deutsche Medic. Wochenschr.*, 18 Mai 1905.

(2) SALMON, Présence du spirochaete pallida chez un enfant syphilitique héréditaire. *Société de Biologie*, 20 mai 1905, Paris.

(3) HOFFMANN. Nachtrag alla terza memoria sulla *Spirochaete pallida*.

(4) WECHSELMANN und LOEWENTHAL, Untersuchungen über die Schaudinn-Hoffmannschen Spirochaetenbefunde in Syphilitischen Krankheitsprodukten. *Medizinischen Klinik*, 1905, N. 26.

(5) QUEYRAT et JOLTRAIN, Spirochaete de Schaudinn dans les chancres syphilitiques. *Société médicale des Hôpitaux*, 25 Juin, 1905, Paris.

trovato gli *Spirochaete pallida* in un gran numero di sifilomi e di averli inutilmente ricercati in ulceri veneree ed in vescicole di erpete.

Accanto a queste ricerche eseguite in prodotti del periodo primario e secondario della sifilide, e nelle quali si è costantemente riscontrata la presenza dello *Spirochaete pallida*, si devono ricordare le altre ricerche di Jacquet e di Sevin (1), estese sopra un gran numero di prodotti terziari e che non hanno mai dimostrato la presenza di alcuna forma parassitaria.

Devo ancora rammentare che Doehle (2), subito dopo le prime osservazioni di Siegel, di Schaudinn ed Hoffmann, ha pubblicato una breve nota per sostenere che le forme parassitarie di questi autori corrispondono ai corpi da lui descritti come il *Syphiliscontagium*, ed interpretati come protozoi fin dal 1892: e, per vero, i corpi di Doehle (Vedesi questo medesimo fascicolo: Pasini, "Sulla etiologia della sifilide", pag. 317), hanno caratteri di somiglianza così spiccati con gli organismi descritti recentemente, da lasciar credere che essi possono identificarsi fra di loro.

Anch'io, nella Clinica dermosifilopatica di Parma, subito dopo la prima comunicazione di Schaudinn ed Hoffmann, ho istituito delle ricerche sulla presenza dello *Spirochaete pallida* nei prodotti sifilitici ed in prodotti di ulcera venerea, di balanopostite erosiva, di blenorragia, di stomatite ulceromembranosa, e nello smegma del sacco prepuziale.

La tecnica da me seguita è quella che ho più sopra indicato: il colorante impiegato, quello di Giemsa messo in commercio dalla casa Grüber di Lipsia.

In otto sifilomi iniziali, dei quali sei appartenevano ad uomini ed erano localizzati al pene, e due appartenevano a donne ed erano localizzati alle piccole labbra, io ho trovato con costanza la presenza di rare forme, le quali corrispondevano perfettamente, per la morfologia ed il colorito assunto, allo *Spirochaete pallida* di Schaudinn.

In un ammalato che si trovava all'inizio del periodo secondario, e presentava un esantema papuloso copiosissimo, ho trovato lo *Spirochaete pallida* nel succo ottenuto per grattamento, mediante un cucchiaino tagliente, da una papula del collo; in questo medesimo ammalato ho fatto ripetute ricerche nel sangue circolante, senza alcun risultato.

In un altro caso ho potuto dimostrare un numero abbastanza rilevante di *Spirochaete pallida* nel prodotto di una placca mucosa della cavità orale.

Affatto negative mi riuscirono le ricerche nello smegma prepuziale, nel prodotto di secrezione di tre ulceri veneree, nel liquido purulento in

(1) JACQUET et SEVIN, Recherches du spirochète de Schaudinn dans certains produits tertiaires. Société médicale des Hôpitaux, 19 mai 1905, Paris.

(2) DOEHLE, Ueber Blutbefunde bei Syphilis. Masern und Pocken *Medizinische Klinik*, N. 24, 1905.

due casi di balanopostite erosiva, nel prodotto di raschiamento di una stomatite ulceromembranosa. In questi ultimi casi ho potuto invece apprezzare le differenze morfologiche e tintoriali più sopra descritte, le quali richiedono una distinzione netta fra lo spirillo di Berdal e Bataille, quello della simbiosi fusospirillare di Vincent, e lo *Spirochaete pallida*.

Da quanto ho esposto appare chiaramente che lo studio sulla etiologia della sifilide ha mutato in questi ultimi mesi l'indirizzo che aveva seguito fin qui.

Abbandonato il campo, dimostratosi infruttuoso, dei cocchi e dei bacilli, si è entrati in quello dei protozoi, e già di questi sono state descritte, come agente patogeno della sifilide, due forme: il *Citoryctes luis* e lo *Spirochaete pallida*. Ma le difficoltà che presenta lo studio di questi organismi sono tali, che non permettono ancora alcuna conclusione sicura. Per i cocchi e per i bacilli le estese conoscenze sulle loro proprietà biologiche, la possibilità di ottenerli in coltura e di praticare delle inoculazioni sperimentali, hanno valso a dimostrare che essi non hanno alcun valore come momento etiologico della sifilide; al contrario nei protozoari la scarsità delle conoscenze sulla loro biologia, e la impossibilità di riprodurli in coltura e di inocularli sperimentalmente, impediscono di attribuire ad essi alcun valore etiologico sicuro, e di aggiungere al criterio del reperto microscopico, gli altri che sono necessari per stabilire il valore patogeno di un microrganismo.

Ogni conclusione quindi sulla importanza di questi protozoari nella etiologia della sifilide è oggidì precoce, e saggiamente gli stessi Schaudinn ed Hoffmann si sono astenuti dal trarne.

Dinanzi ai due protozoari descritti, il *Citoryctes luis* e lo *Spirochaete pallida*, è necessario stabilire: se l'una o l'altra di queste forme può veramente considerarsi come l'agente patogeno della sifilide, se fra di esse intercorrono delle relazioni biologiche, così che l'una debba considerarsi come un diverso stadio di sviluppo dell'altra, ed infine se questi protozoi non costituiscono un semplice saprofita che trova nei tessuti sifilitici ottime condizioni di vita e di riproduzione, alla stessa guisa degli stafilococchi nel diabete.

Nell'attesa che la tecnica batteriologica, radicalmente modificata, permetta di risolvere questi problemi con il concorso del reperto colturale, il sifilografo potrà intanto apprezzare quale importanza possono avere questi protozoi nella etiologia della sifilide, studiandone sopra un gran numero di casi il valore come criterio diagnostico.

Parma, 2 luglio, 1905.
